

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-90367

(P2002-90367A)

(43) 公開日 平成14年3月27日 (2002.3.27)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/566		G 0 1 N 33/566	4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 6 3
G 0 1 N 27/416		G 0 1 N 33/53	D
33/53		27/46	3 8 6 G
// C 1 2 N 15/09		C 1 2 N 15/00	A
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁)			

(21) 出願番号 特願2000-280845 (P2000-280845)

(22) 出願日 平成12年9月14日 (2000.9.14)

(71) 出願人 000003078

株式会社東芝

東京都港区芝浦一丁目1番1号

(72) 発明者 石原 美津子

神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株

式会社東芝研究開発センター内

(74) 代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外6名)

Fターム(参考) 4B024 AA20 CA01 HA12

4B063 QA01 QA11 QQ42 QQ79 QR32

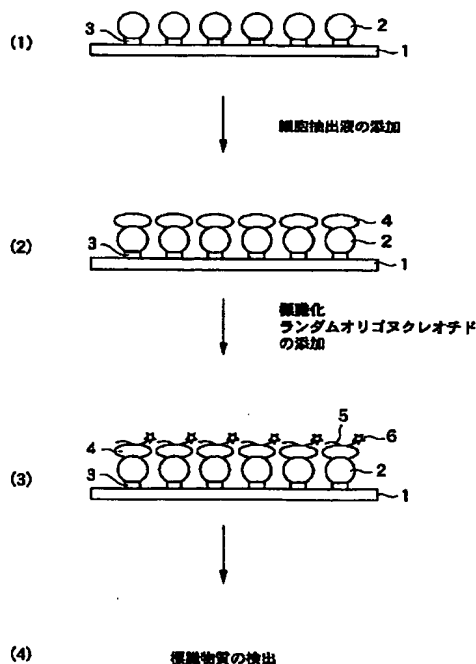
QR55 QS03 QS32 QX02

(54) 【発明の名称】 ヌクレオチド結合性の検出方法

(57) 【要約】

【課題】 簡便に且つ短時間に、更に陽性物質を漏らすことなく、被検物質のヌクレオチド結合性を検出できる方法を提供する。

【解決手段】 被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法であって、支持体に任意の被検物質を固定する工程と、前記被検物質に対して任意のタンパク質を接触させる工程と、予め標識物質で標識した任意の配列をもつヌクレオチドを前記タンパク質に接触させる工程と、および前記標識物質を検出することによって前記被検物質のヌクレオチド結合性を検出する工程とを具備することを特徴とするヌクレオチド結合性の検出方法。



BEST AVAILABLE COPY

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法であって、

支持体に任意の被検物質を固定する工程と、

前記被検物質に対して任意のタンパク質を接触させる工程と、

予め標識物質で標識した任意の配列をもつヌクレオチドを前記タンパク質に接触させる工程と、および前記標識物質を検出することによって前記被検物質のヌクレオチド結合性を検出する工程と、を具備することを特徴とするヌクレオチド結合性の検出方法。

【請求項2】 前記標識物質が蛍光色素であることを特徴とする請求項1に記載の被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法。

【請求項3】 前記支持体が電極からなり、前記標識物質が電気的活性物質であることを特徴とする請求項1に記載の被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、細胞に由来する受容体等のタンパク質を介するヌクレオチド結合性を被検物質について検出する方法に関する。例えば、本発明の方法によって検出されたヌクレオチド結合性を基に、DNAに結合することにより毒性を示すような被検物質の内分泌攪乱性を評価することが可能である。

## 【0002】

【従来の技術】近年、外因性内分泌攪乱物質の生殖系および神経系等への障害性が社会問題となっている。外因性内分泌攪乱物質は、一般的に環境ホルモンとも呼ばれ、ダイオキシンを始めとする多くの化合物がこれに該当することが既に知られている。

【0003】現在、内分泌攪乱性毒性の検出は様々な方法によって行われ、新規および既知の材料、化学物質および医薬品、並びに何れかの環境から採取した試料等を含む様々な物質が、その被検物質として試験されている。しかしながら、そのような物質の外因性内分泌攪乱性毒性は、作用濃度が10pptレベル程度と極めて低いため、従来の方法を用いた通常の毒物スクリーニングの濃度範囲では、その作用を検出ことは困難である。従って、予備試験として大まかに毒性評価を実施できるようなプレスクリーニング方法の提供が望まれる。

【0004】一方、プレスクリーニング方法の1つとして、DNA結合性の検出が考えられる。しかし、外因性内分泌攪乱物質は、受容体等のタンパク質を介して標的DNAに結合し、それによって当該DNAの発現等に影響を与え毒性を生じる。即ち、外因性内分泌攪乱物質のDNAへの結合が、直接的な結合ではなく、受容体等のタンパク質を介して生じることから、従来の方法では容易にその結合性を評価することはできない。例えば、DNAアフィニティクロマトグラフィ法(Duncan,D.H.,An

al.Biochem,1988,169(1),104-8を参照されたい)では、特定配列のDNAを固定した担体を作製し、当該DNAに対する被検物質の結合を検出するために、結合に関与するタンパク質(即ち、受容体等)や標的となるDNA配列を同定しなくてはならない。通常、そのような同定には、目的とする受容体またはDNAを高速液体クロマトグラフィ(HPLC)または液体クロマトグラフィ等による分離、十分な純度までの精製、および配列を決定した後大腸菌に導入することによってその発現を確認すること等の複雑な作業を行わなくてはならず、多くの労力と時間を必要としている。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記の状況に鑑み、本発明の目的は、簡便に且つ短時間に、更に陽性物質を漏らすことなく、被検物質のヌクレオチド結合性を検出できる方法を提供することである。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、外因性内分泌攪乱物質が、受容体等のタンパク質を介してDNAに結合し、その遺伝子発現に影響して毒性を生じるという特徴に注目した。更に、被検物質のDNA結合性の有無を検出することにより、内分泌攪乱作用の有無を予測できるとの仮説を立て、鋭意研究を行った。その結果、従来法では達成できなかった被検物質のヌクレオチド結合性の簡便な検出手段を見出した。即ち、被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法であって、支持体に任意の被検物質を固定する工程と、前記被検物質に対して任意のタンパク質を接触させる工程と、予め標識物質で標識した任意の配列をもつヌクレオチドを前記タンパク質に対して接触させる工程と、および前記標識物質を検出することによって前記被検物質のヌクレオチド結合性を検出する工程と、を具備する方法である。

## 【0007】

【発明の実施の形態】1.ヌクレオチド結合性の簡易検出法

本発明の方法は、被検物質を不溶性の支持体に固定化することと、受容体等の被検物質の結合に関与するタンパク質を含有する細胞抽出液を前記被検物質に結合させることによって、被検物質と当該タンパク質からなる複合体(以下、被検物質-タンパク質複合体と称す)を形成し、この被検物質-タンパク質複合体をリガンドとして用い、前記リガンドに対して、予め標識物質で標識した任意のヌクレオチドを親和的に結合させ、この結合の有無を当該標識物質を検出することによってタンパク質を介した被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法である。

【0008】ここで、「タンパク質を介した」の語は、主に、ホルモン様物質がDNA等のヌクレオチドに結合する場合に関与する受容体を介することを意味するが、ここでの「タンパク質」とは、受容体であると既に同定

されているタンパク質だけに限るものではなく、本発明の被検物質に結合し、且つ本発明の何れかのヌクレオチドに結合するタンパク質を意味する。

【0009】以下に、更に詳しく本発明のタンパク質を介した被検物質のヌクレオチド結合性を検出する方法を図1から3を用いて説明する。

#### 【0010】(1) 被検物質の固定化

まず、支持体1に対して任意の被検物質2を固定する(図1の(1))。支持体1は、一般的に所謂DNAチップ等として使用されるガラス基板、シリコン基板および電極基板等の基板であってもよく、また一般的にカラム充填剤として使用されるポリマー等の担体を用いてもよい。或いは、一般的にカラムクロマトグラフィー等

に使用されるガラス製カラム等の内壁に被検物質を直接的または間接的に結合してもよい。

【0011】何れの支持体を用いた場合も、被検物質の固定は、ポリマー3を用いることで容易に実施することが可能である。また、電荷を与えることにより固定化しても、抗体を用いて固定化してもよい。或いは、他の一般的に使用される何れかの手段により、例えば、共有結合、イオン結合、物理吸着または化学吸着等によって固定してもよい。

【0012】好ましいポリマーは、例えば、エポキシ活性化セファロース6Bのようなセファロース誘導体、セファデックス(Sephadex)およびポリアクリルアミド等である。ポリマーは、支持体の全表面に処理されても、支持体表面の一部分に処理されてもよいが、偽陽性を防ぐためには、被検物質が配置される領域のみに処理されることが好ましい。

【0013】また、図2に示すように、複数の固定領域11を配置し、夫々の領域に対して異なる被検物質を固定することも可能である(図2)。更に、図3に示すように、例えば、セファロース等のポリマー担体21の表面に被検物質22を付着させ(図3(1))、これをカラムに充填することにより本方法を実施することも可能である(図3)。この場合、図2の(2)以下の操作は、図1に示した操作と同様に実施される。

【0014】本発明でヌクレオチド結合性を検出することが可能な被検物質は、新規および既知の材料、化学物質および医薬品、並びに何れかの環境から採取した試料等、種々の物質を含む。また、工業排水等の排液等

に含有される複数の物質に関しても試験を行うことが可能である。例えば、カラムに上述のようなポリマーを充填し、その後、該カラムに被検排液を流すことにより、被検排液に含まれる複数の化合物を容易に且つ同時に該ポリマーに固定することが可能である。

【0015】例えば、エポキシ活性化セファロース6Bのようなセファロース誘導体を用いる場合の被検物質の固定手段の例を以下に示す。まず、使用するポリマーに適

当物質と当該ポリマーとを混合する。これによって、官能基を介するカップリングが進行する。続いて、当該ポリマーを介して支持体に被検物質を固定すればよい。しかしながら、これに限られるものではなく、支持体の表面全体にポリマーを塗布した後に、被検物質を固定してもよい。また、充填剤として使用されるポリマー担体を支持体として使用する場合も上述の方法と同様に、所望するポリマーと被検物質を混合することにより固定することが可能である。

#### 【0016】(2) 任意のタンパク質の供給

続いて、上記(1)の工程で得られた支持体1に固定した被検物質2に対して、任意のタンパク質4を接触させる(図1の(2))。任意のタンパク質4は、以下のようなホモジネートにより調製した細胞抽出液に含まれるものが挙げられる。当該細胞抽出液を固定した被検物質2に接触させることにより、当該タンパク質4の被検物質2への結合が生じ得る。

【0017】前記細胞抽出液は、外因性内分泌攪乱物質が影響を与える可能性のある組織、例えば、卵巣、精巣、脳、甲状腺および骨髄等を、それ自身公知の手段によりホモジネートし、ナイロンメッシュを用いての濾過操作または遠心分離操作等による分離操作等によって、血管および脂肪組織等を除去した後で、所望に応じた適切な濃度に希釈することによって得ることが可能である。

【0018】所望の組織は、ヒト、ブタ、ウシ、ラット、ウサギおよびヒツジ等の哺乳類、並びに魚類、爬虫類、両生類および鳥類等の何れの生物に由来するものであってもよい。

【0019】当該ホモジネートは、使用する組織に応じて一般的に使用される何れかの生理的緩衝液および生理的食塩水等を使用し、一般的に使用されるテフロン(登録商標)またはガラス製ホモジナイザーを用いて、且つ一般的な条件で行うことが可能である。

【0020】ここでいう「任意のタンパク質」とは、所望する組織または細胞に含有される全てのタンパク質であってよく、内分泌ホルモンまたは内分泌攪乱性物質の受容体を含み、また公知または未知若しくは未同定のタンパク質を含む。

#### 【0021】(3) 標識ヌクレオチドの供給

上記で得られた支持体と被検物質とタンパク質との複合体(以下、支持体-被検物質-タンパク質複合体と称する)に対して、標識したランダムな配列をもつヌクレオチドを供給する。支持体1が図1に示すような平板である場合、標識化ランダムヌクレオチド混合物をタンパク質4に接触する。これにより、被検物質がヌクレオチド結合性を有するならばその親和性によってヌクレオチドと結合する(図1)。また、支持体1として充填剤等のポリマーを使用した場合にも、適当なカラム中の支持体-被検物質-タンパク質複合体に、標識物質で標識した

ランダムな配列を持つヌクレオチド混合物を流すことにより、被検物質がヌクレオチド結合性を有するならばヌクレオチドと結合することが可能となる。

【0022】本発明の方法で使用する「任意の配列を有するヌクレオチド」は、アデニン、チミン、グアニン、シトシンおよびウラシルの5つの塩基を、好ましくは約5から約10塩基長でランダムに組み合わせて得ることができるオリゴヌクレオチド群であることが望ましい。その製造方法は、上記の5塩基を含む、例えば、一般的に市販される5塩基混合液を使用し、完全にランダムな配列を合成するような条件に設定したシンセサイザーを用いて人工的に合成できる。また、ここで使用するオリゴヌクレオチドの長さを約5から約10塩基としたのは、一般的に受容体結合性を有するオリゴヌクレオチドのモチーフが、5から6塩基であることに基づく。しかしながらこれに限定されるものではない。

【0023】ここで使用する「オリゴヌクレオチド」の語は、数個から数十個のヌクレオチドがホスホジエステル結合で重合したものをいい、オリゴリボヌクレオチドおよびオリゴデオキシリボヌクレオチドを含む。前記の通りに、例えば、5から10塩基長のオリゴヌクレオチドを完全なランダムで合成した場合、 $5^5$  から  $5^{10}$  種類のオリゴヌクレオチドを得ることが可能である。このように、任意の配列を有するヌクレオチドを使用し、更に上述したような細胞抽出液を用いることによって、真の陽性検体を漏らすところなく、被検物質のヌクレオチド結合性を評価することが可能である。

【0024】また、本発明の方法で使用する標識物質は、例えば、FITC、ローダミンおよびCy等の蛍光色素、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{125}\text{I}$  および  $^3\text{H}$  等の放射性物質、ヘキスト33258等の電位的活性物質である。何れの標識物質を選択するかは、使用する支持体および検出手段等の種々の条件によって試験実施者が任意に選択してよい。

【0025】(4)ヌクレオチド結合性の検出  
次に、該標識物質を検出することによって被検物質のヌクレオチド結合性を検出する(図1(4))。上記で得られた担体-被検物質-タンパク質複合体に対するヌクレオチドの結合の有無は、標識物質6を検出することによって容易に検出できる。標識物質6の検出は、使用した標識物質6に応じてそれ自身公知の何れかの手段によって行ってよい。この工程の前に未結合の標識されたヌクレオチドを洗浄により除去することが望ましい。

【0026】また、夫々の標識物質6の検出は、支持体1に結合したままで、例えば、蛍光強度や放射線量等を測定することにより行っても、或いは、強酸や高濃度の塩溶液で洗い流すことによって標識物質を回収した後に測定してもよい。また、支持体1に電極を用い、標識物質6に電位的活性物質を使用して、結合したままで電位の変化を測定することによって標識物質を検出してもよ

い。

【0027】前記溶出等を使用する強酸は、約pH5以下の塩酸および硫酸等よく、また、高濃度の塩溶液は、約 $10^{-1}$  から  $10^{-2}$  Mの塩化ナトリウムまたは塩化カリウム水溶液等でよい。

【0028】担体としてポリマー担体21を用いて、これに対して被検物質21を付着し、カラムに充填して使用する場合にも、上記の手順と同様に、タンパク質の結合および標識ヌクレオチドの結合を行い、次に標識物質の検出を実施することにより、当該被検物質のヌクレオチド結合性を検出することが可能である(図3)。カラムに充填する方法を用いれば、夫々の工程を当該カラムに各溶液を添加することによって行うことが可能である。また、標識物質の検出は、カラム内に吸着したままの状態でも、溶出液を回収した後に検出しても行うことが可能である。カラムを用いる場合、操作がより容易にできる。適切な溶出液は、例えば、上述の強酸や高濃度の塩溶液等を用いてよい。

【0029】本発明の検出方法によって「ヌクレオチド結合性」を有すると判定された被検物質は、例えば、内分泌攪乱性を有する可能性が考えられる。ここでいう「内分泌攪乱性」とは、生体の恒常性、生殖、発生または行動に関する種々の生体内ホルモンの合成、貯蔵、分泌、体内輸送、受容体結合、ホルモン作用または排出等の諸過程に影響する外因性化学物質の性質をいい、これらの物質は、一般的には「外因性内分泌攪乱物質」、「内分泌攪乱物質」または「内分泌障害性物質」、或いは「環境ホルモン」と称される。このような物質は、一般的に、ppb から ppt のレベルの極微量で、生物の生殖系、神経系および免疫系等の種々の機能に対して慢性的に影響を与える。本発明を予備的なスクリーニングとして使用すれば、このような微量の作用も簡便に且つ漏れなく検出することが可能である。また、本願方法により陽性であると判定された化合物を、詳細な内分泌攪乱性の検出試験に供するようにすれば、試験の短時間化が可能である。

【0030】2. マイクロアレイの例

次に、上述の検出を、同時に複数の被検物質について行う場合の好ましい例を説明する。例えば、マイクロアレイを使用した方法である。マイクロアレイの作製は、一般的なDNAマイクロアレイの作製に用いるガラス基板、膜、電極を支持体として用いて、その上に被検物質を固定することで達成してよい。例えば、マイクロアレイの主な種類には、以下のような蛍光検出型および電位型マイクロアレイ(一般的に、遺伝子センサ型マイクロアレイとも称す)等が含まれる。

【0031】(1) 蛍光検出型マイクロアレイ

蛍光検出型マイクロアレイは、一般的に、支持体としてガラスまたはシリコン基板等を用い、標識物質として蛍光物質を用いるものをいう。被検物質の固定は、当該基

板の表面に、スポッター等を用いる一般的な手法によって行うことができる。また、この固定は、共有結合、イオン結合、物理吸着または化学吸着の何れかによって、またはそれ自身公知の何れかの他の手段を用いて行ってもよい。続いて、被検物質を固定した該基板の固定領域に対して、上述の通りに調製した細胞抽出液を接触させる。次に、予め蛍光物質によって標識したランダムヌクレオチド混合物を親和的に結合させる。結合した該蛍光物質を、蛍光リーダー等を使用して検出することによって被検物質のヌクレオチド結合性を検出する。

【0032】(2) 遺伝子センサ型マイクロアレイ  
遺伝子センサ型マイクロアレイは、一般的に、支持体として電極基板を用い、標識物質として電気的活性物質を用いるものをいう。

【0033】被検物質の電極基板上への固定は、当該基板の表面に対してスポッター等を用いる一般的な手法により達成できる。また、ここでの固定は、共有結合、イオン結合、物理吸着または化学吸着の何れかによって、またはそれ自身公知の何れかの他の手段によって行ってもよい。次に、当該基板の固定領域に対して、上述の通りに調製した細胞抽出液を接触させる。次に、予め電気的活性物質で標識したランダムヌクレオチド混合物を親和的に結合させ、結合した該電気的活性物質を遺伝子センサによって検出することによって被検物質のヌクレオチド結合性を検出する。

【0034】遺伝子センサ型DNAチップの例は、平成8年10月24日に登録された特許番号第2573443号の自動遺伝子検出装置等であるが、これに限られるものではない。従来の遺伝子センサ型DNAチップでは、基板に固定するブロープとして、DNAブロープまたはRNAブロープ等、種々のヌクレオチドブロープを用いている。その検出対象は、そのヌクレオチドブロープに対する相補鎖である。本発明では、DNA鎖の代わりに、被検物質を基板に固定している点が従来と大きく異なる。また、従来の検出では、標識物質は、ブロープと検出対象である相補鎖との結合による二重鎖の間に挿入（即ち、インターカレート）することが可能な電気的活性物質を用いている。それに対して本願発明の方法では、検出物質とブロープとの間に蛍光物質を挿入する必要がなく、予め完全に任意のヌクレオチドに標識しておけばよいので、標識処理をより簡便に行うことが可能である。また、電気的活性物質の性質を考慮することなく、使用する電気的活性物質を選択することが可能である。

【0035】以上のように、本発明の被検物質-タンパク質複合体をリガンドとして固定した支持体を用いて、被検物質とヌクレオチドとのアフィニティに基づいてヌクレオチド結合性を検出することにより、試験を簡便に且つ短時間に実施することが可能である。従って、本発明の検出法により、物質の環境ホルモン性の毒性を容易

にスクリーニングすることができる。また、本方法は、陽性である可能性を見落とすことが極めて少ないので、予備試験として非常に有効である。

【0036】本発明は、上述のセンサ型マイクロアレイおよび蛍光検出型マイクロアレイ、更に、当該マイクロアレイを用いた検出方法も同様に提供するものである。

【0037】

【実施例】【実施例1】

アフィニティカラムクロマトグラフィによる物質のヌクレオチド結合性の検出

(1) 被検物質固定化担体の作製

リガンド固定用担体として、エポキシ活性セファロース4B（アマシャム・ファルマシアバイオテック社製）を用いた。これを蒸留水で十分に洗浄した後で、被検物質を溶解した1MのNaOHに懸濁し、室温で24時間に亘って激しく攪拌した。その後、濾過によって担体を回収し、過剰のリガンドを水洗により除去した。続いて、2Mの炭酸カリウム緩衝液（pH10）に懸濁し、2日間静置した。被検物質が固定化された後、被検物質固定化セファロース4Bを回収して10mM塩酸を用いて洗浄した。その後、0.1Mのエタノールアミン水溶液担体を回収し洗浄して被検物質固定化担体とした。

【0038】(2) 被検物質受容体の結合

8週齢のSDラットから脳を摘出し、3倍量の緩衝液A（0.32Mの蔗糖-20mMのトリスクエン酸（pH7.4））を加え、ハサミで細かく刻んでから、ホモジナイザーで均一な懸濁液になるまでホモジナイズした。そのホモジネートを二枚重ねたナイロンメッシュ（メッシュサイズ133μm、77μm）に通して組織抽出液とした。この組織抽出液を10倍量のPBS（リン酸緩衝液pH7.4）に希釈し、上記（1）で得た被検物質固定化担体と混合した。プロテアーゼインヒビターである0.1mMのPMSFを添加して、4℃で24時間攪拌し、被検物質の受容体様タンパク質と結合させた。反応終了後、遠心によって過剰なタンパク質を取り除き、PBSで洗浄して被検物質-受容体タンパク質複合体固定化担体を得た。これをカラムに充填した。

【0039】(3) 標識化ランダムオリゴヌクレオチドの結合

40 蛍光色素で標識したランダムな配列を有する10塩基のオリゴヌクレオチド混合物を上記（2）で得たカラムに上部から流し込み該担体に結合させた。その後、吸着容量の3倍量のPBSで洗浄した。

【0040】(4) 標識化ランダムオリゴヌクレオチドの検出

上記（3）の工程で洗浄した後、当該カラムに0.1Mの酢酸を流して溶出液を得た。この溶出液の蛍光強度を蛍光光度計を用いて検出し、オリゴヌクレオチド結合性を求めた。

50 【0041】【実施例2】

### 蛍光検出型マイクロアレイによる検出

複数の被検物質を、ポリリジンでコートしたガラス基板上に市販のスプッターを用いて固定化し、被検物質固定化マイクロアレイを作製した。実施例1と同様に調製した組織抽出液と蛍光色素標識化ランダムオリゴヌクレオチド混合物溶液とを順に接触させ、洗浄した後、蛍光スキャナーで蛍光強度を検出した。

#### 【0042】【実施例3】

### 遺伝子センサ型マイクロアレイによる検出

複数の被検物質を、金電極上にスポットして化学吸着による固定化を行い、被検物質固定化マイクロアレイ電極を作製した。実施例1と同様に調製した組織抽出液を調製した。ランダムな配列の10塩基のオリゴヌクレオチド混合物は、電気的活性物質であるヘキスト33258で標識した。該組織抽出液と標識化ランダムオリゴヌクレオチド混合物を順に接触させ、洗浄した。次に、遺伝子センサーによる電気的活性物質の検出によってオリゴヌクレオチド結合量を検出した。

#### 【0043】

【発明の効果】以上のように、本発明の方法は、被検物質の受容体を単離および同定する必要がないため、被検物質のヌクレオチド結合性を容易に検出することができ、従って、本発明の検出方法により、物質の環境ホルモンの毒性を簡便に且つ短時間に検出することが可能である。

【0044】また、細胞抽出液とランダムヌクレオチドを用いると、ヌクレオチド結合性を有する可能性を見\*

\* 落とす危険性が極めて低い。従って、環境ホルモン性の検出を簡便に行うことが可能な予備試験として非常に有益である。

【0045】また、1つのアレイ上で、複数の被検物質を1度に試験することも可能である。また、複数の物質が含有する排液についても、そこに含まれる環境汚染物質を簡便に検出することが可能である。

【0046】また、ヌクレオチド結合性を容易に検出する特徴から、本発明の方法は、ドラッグデリバリー手段を開発するためのスクリーニング等に利用できることも考えられる。例えば、放射性同位元素、医薬品またはその他の原因により生じた組織障害および細胞障害部位に対して、選択的に結合する担体等のスクリーニングには有益であろう。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の好ましい方法の1例を示すスキーム図。

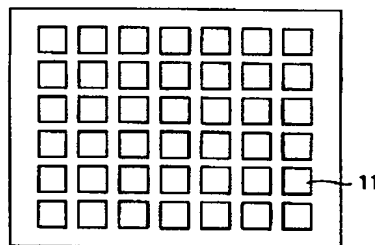
【図2】 複数の固定領域を有する本発明の好ましいマイクロアレイの平面図。

【図3】 本発明の好ましい方法の1例を示すスキーム図。

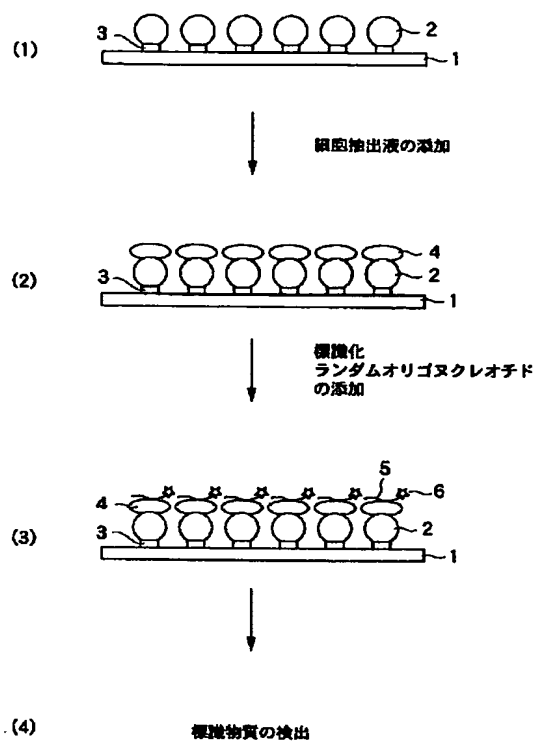
#### 【符号の説明】

1. 支持体    2. 被検物質    3. ポリマー    4. タンパク質    5. ランダムヌクレオチド    6. 標識物質  
11. 固定領域    21. ポリマー担体  
22. 被検物質    23. タンパク質    24. ヌクレオチド    25. 標識物質

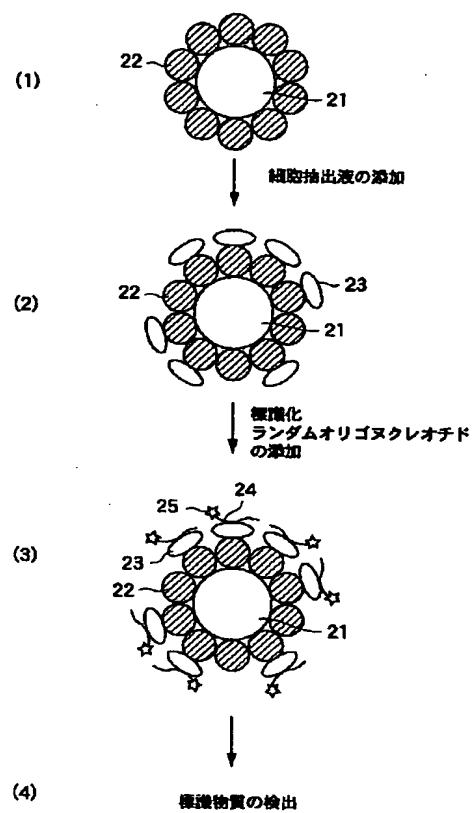
【図2】



【図1】



【図3】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

### **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**